



**PCT**  
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales Büro  
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

|   |  |   |  |  |
|---|--|---|--|--|
| <b>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>5</sup> :</b><br><br>C07H 3/02, 3/08   | <b>A1</b>  | <b>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:</b> WO 92/05182<br><b>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:</b> 2. April 1992 (02.04.92) |  |  |
| <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"><tr><td style="width: 50%; vertical-align: top; padding: 5px;"><b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/EP91/01426<br/><b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 30. Juli 1991 (30.07.91)<br/><br/><b>(30) Prioritätsdaten:</b><br/>P 40 30 262.8                      25. September 1990 (25.09.90) DE<br/><br/><b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> SÜD-ZUCKER AG MANNHEIM/OCHSENFURT [DE/DE]; Maximilianstraße 10, D-6800 Mannheim (DE).<br/><br/><b>(72) Erfinder; und</b><br/><b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US) :</b> MIXICH, Johann [DE/DE]; An der Ziegelei 14, D-6233 Kelkheim (DE). RAPP, Knut, Martin [DE/DE]; Im Kerner 16, D-6521 Offstein (DE). VOGEL, Manfred [DE/DE]; Am Höllpfad 1, D-6719 Neuleiningen (DE).</td><td style="width: 50%; vertical-align: top; padding: 5px;"><b>(74) Anwalt:</b> MITSCHERLICH, GUNSCHMANN, KÖRBER, SCHMIDT-EVERS, MELZER, SCHULZ; Steinsdorfstraße 10, D-8000 München 22 (DE).<br/><br/><b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> AT (europäisches Patent), BE (europäisches Patent), CH (europäisches Patent), DE (europäisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (europäisches Patent), FI, FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), GR (europäisches Patent), IT (europäisches Patent), JP, LU (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), NO, SE (europäisches Patent), US.<br/><br/><b>Veröffentlicht</b><br/><i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i></td></tr></table>                     |  |   | <b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/EP91/01426<br><b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 30. Juli 1991 (30.07.91)<br><br><b>(30) Prioritätsdaten:</b><br>P 40 30 262.8                      25. September 1990 (25.09.90) DE<br><br><b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> SÜD-ZUCKER AG MANNHEIM/OCHSENFURT [DE/DE]; Maximilianstraße 10, D-6800 Mannheim (DE).<br><br><b>(72) Erfinder; und</b><br><b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US) :</b> MIXICH, Johann [DE/DE]; An der Ziegelei 14, D-6233 Kelkheim (DE). RAPP, Knut, Martin [DE/DE]; Im Kerner 16, D-6521 Offstein (DE). VOGEL, Manfred [DE/DE]; Am Höllpfad 1, D-6719 Neuleiningen (DE). | <b>(74) Anwalt:</b> MITSCHERLICH, GUNSCHMANN, KÖRBER, SCHMIDT-EVERS, MELZER, SCHULZ; Steinsdorfstraße 10, D-8000 München 22 (DE).<br><br><b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> AT (europäisches Patent), BE (europäisches Patent), CH (europäisches Patent), DE (europäisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (europäisches Patent), FI, FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), GR (europäisches Patent), IT (europäisches Patent), JP, LU (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), NO, SE (europäisches Patent), US.<br><br><b>Veröffentlicht</b><br><i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i> |
| <b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/EP91/01426<br><b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 30. Juli 1991 (30.07.91)<br><br><b>(30) Prioritätsdaten:</b><br>P 40 30 262.8                      25. September 1990 (25.09.90) DE<br><br><b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> SÜD-ZUCKER AG MANNHEIM/OCHSENFURT [DE/DE]; Maximilianstraße 10, D-6800 Mannheim (DE).<br><br><b>(72) Erfinder; und</b><br><b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US) :</b> MIXICH, Johann [DE/DE]; An der Ziegelei 14, D-6233 Kelkheim (DE). RAPP, Knut, Martin [DE/DE]; Im Kerner 16, D-6521 Offstein (DE). VOGEL, Manfred [DE/DE]; Am Höllpfad 1, D-6719 Neuleiningen (DE).  | <b>(74) Anwalt:</b> MITSCHERLICH, GUNSCHMANN, KÖRBER, SCHMIDT-EVERS, MELZER, SCHULZ; Steinsdorfstraße 10, D-8000 München 22 (DE).<br><br><b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> AT (europäisches Patent), BE (europäisches Patent), CH (europäisches Patent), DE (europäisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (europäisches Patent), FI, FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), GR (europäisches Patent), IT (europäisches Patent), JP, LU (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), NO, SE (europäisches Patent), US.<br><br><b>Veröffentlicht</b><br><i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i> |   |  |  |
| <b>(54) Title:</b> PROCESS FOR PRODUCING RHAMNOSE FROM RHAMNOLIPIDS<br><b>(54) Bezeichnung:</b> VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON RHAMNOSE AUS RHAMNOLIPIDEN<br><br><b>(57) Abstract</b> <p>The invention relates to a process for the production of rhamnose from rhamnolipids in which an acid emulsion of the rhamnolipid is hydrolysed at 100 to 200 °C and then cooled, the aqueous phase of the hydrolysate produced is separated from the lipid phase, its pH is raised by the addition of a basic compound, any remaining precipitate is separated, the remaining solution condensed and either further processed directly or chromatographed via an ion exchange resin. The eluate comprises rhamnose-containing fractions which can be further processed as such or converted into crystalline rhamnose monohydrate.</p> <b>(57) Zusammenfassung</b> <p>Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Rhamnose aus Rhamnolipiden, bei dem eine saure Emulsion des Rhamnolipids bei 100 bis 200 °C hydrolysiert und anschließend gekühlt wird, die wässrige Phase des entstandenen Hydrolysats wird von der lipiden Phase abgetrennt, ihr pH-Wert durch Zugabe einer basischen Verbindung angehoben, ein etwa entstehender Niederschlag abgetrennt, die verbleibende Lösung eingeeengt, und entweder unmittelbar weiterverarbeitet oder über ein Ionenaustauscherharz chromatographiert, wobei als Eluat Rhamnose enthaltende Fraktionen anfallen, die als solche weiterverarbeitet oder zu kristallinem Rhamnosemonohydrat aufgearbeitet werden.</p> |  |   |  |  |

### **LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

|           |                                |           |                                   |                       |                                |
|-----------|--------------------------------|-----------|-----------------------------------|-----------------------|--------------------------------|
| <b>AT</b> | Österreich                     | <b>ES</b> | Spanien                           | <b>ML</b>             | Mali                           |
| <b>AU</b> | Australien                     | <b>FI</b> | Finnland                          | <b>MN</b>             | Mongolei                       |
| <b>BB</b> | Barbados                       | <b>FR</b> | Frankreich                        | <b>MR</b>             | Mauritanien                    |
| <b>BE</b> | Belgien                        | <b>GA</b> | Gabon                             | <b>MW</b>             | Malawi                         |
| <b>BF</b> | Burkina Faso                   | <b>GB</b> | Vereinigtes Königreich            | <b>NL</b>             | Niederlande                    |
| <b>BG</b> | Bulgarien                      | <b>GN</b> | Guinea                            | <b>NO</b>             | Norwegen                       |
| <b>BJ</b> | Benin                          | <b>GR</b> | Griechenland                      | <b>PL</b>             | Polen                          |
| <b>BR</b> | Brasilien                      | <b>HU</b> | Ungarn                            | <b>RO</b>             | Rumänien                       |
| <b>CA</b> | Kanada                         | <b>IT</b> | Italien                           | <b>SD</b>             | Sudan                          |
| <b>CF</b> | Zentrale Afrikanische Republik | <b>JP</b> | Japan                             | <b>SE</b>             | Schweden                       |
| <b>CG</b> | Kongo                          | <b>KP</b> | Demokratische Volksrepublik Korea | <b>SN</b>             | Senegal                        |
| <b>CH</b> | Schweiz                        | <b>KR</b> | Republik Korea                    | <b>SU<sup>+</sup></b> | Soviet Union                   |
| <b>CI</b> | Côte d'Ivoire                  | <b>LI</b> | Liechtenstein                     | <b>TD</b>             | Tschad                         |
| <b>CM</b> | Kamerun                        | <b>LK</b> | Sri Lanka                         | <b>TG</b>             | Togo                           |
| <b>CS</b> | Tschechoslowakei               | <b>LU</b> | Luxemburg                         | <b>US</b>             | Vereinigte Staaten von Amerika |
| <b>DE</b> | Deutschland                    | <b>MC</b> | Monaco                            |                       |                                |
| <b>DK</b> | Dänemark                       | <b>MG</b> | Madagaskar                        |                       |                                |

**+ Die Bestimmung der "SU" hat Wirkung in der Russischen Föderation. Es ist noch nicht bekannt, ob solche Bestimmungen in anderen Staaten der ehemaligen Sowjetunion Wirkung haben.**

1 Verfahren zur Herstellung von Rhamnose aus Rhamnolipiden

5 Rhamnose ist ein 6-Desoxyzucker (Monosaccharid), der in der Natur sowohl in der D- als auch in der L-Form vorkommt.

Die Herstellung von L-Rhamnose, die das heute am einfachsten  
10 zugängliche 6-Desoxymonosaccharid ist, ist Gegenstand verschiedener Patentanmeldungen. Aus derartigen Desoxyzuckern läßt sich u.a. 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-2,3-  
15 dihydrofuran-3-on (Furaneol) herstellen, das Verwendung als Aromastoff findet.

20 Als Ausgangsstoffe für eine Gewinnung von Rhamnose kommen verschiedene Naturstoffe in Frage, z.B. Glycoside wie Rutin, Quercitrin, Naringin, Hesperidin und Polysaccharide wie Gummi arabicum, das fermentativ gewonnene Polysaccharid S-60  
(US-PS 4 326 053) oder Rhamnolipide, die fermentativ oder  
25 mikrobiell, z.B. von Bakterien der Gattung Pseudomonas, u.a. aus natürlichen Ölen oder Erdölfraktionen produziert werden.

Unabhängig von der Art der vorgenannten Ausgangsstoffe ist zur Gewinnung der Rhamnose eine Hydrolyse, die enzymatisch  
30 oder sauer katalysiert sein kann, notwendig, wobei man ein Gemisch enthält, das neben Rhamnose noch andere Substanzen enthält.

Wenn man von Rhamnose enthaltenden Glycosiden ausgeht, ist  
35 man auf pflanzliche Ausgangsprodukte, z.B. Abfälle der Zitrusauftherstellung angewiesen, die nur im jahreszeitlichen Rhythmus anfallen und deren Zusammensetzung in weiten Grenzen schwankt. Um von derartigen Schwankungen unabhängig zu sein, ist es vorteilhafter, fermentativ gewonnene Polysaccharide oder Rhamnolipide als Ausgangsstoffe zu verwenden, die reproduzierbar hergestellt werden können.

1 Die Verwendung von Rhamnolipiden hat gegenüber der von  
Rhamnose enthaltenden Heteropolysacchariden den Vorteil,  
daß der gewünschte Zucker - Rhamnose - nach einer Hydrolyse  
nicht von anderen Zuckern, z.B. Glucose und Mannose, die  
sonst vielfach in wesentlichen Mengen in der Hydrolyselösung  
5 enthalten sind, abgetrennt werden muß. Die Trennung eines  
komplexen Zuckergemisches ist technisch aufwendiger als die  
Isolierung der Rhamnose aus dem Hydrolysat eines  
Rhamnolipids.

10 Ein Rhamnolipid, insbesondere ein fermentativ gewonnenes  
Rhamnolipid, ist somit ein gut geeignetes Ausgangsmaterial  
für eine Rhamnose-Produktion.

Für eine Produktion von Rhamnose in technischem Maßstab  
15 ist neben einem geeigneten Ausgangsmaterial die Möglichkeit  
einer leichten Isolierung der Rhamnose aus einem Hydrolysat  
komplexer Zusammensetzung von ganz entscheidender Bedeutung.

Für die Gewinnung von Rhamnose aus Hydrolysaten sind folgende  
20 Methoden beschrieben:

Nach der DE-OS 35 45 107 wird zu dem neutralisierten wäßrigen  
Hydrolysat eine große, insbesondere eine 5- bis 20-fache  
25 Menge, bezogen auf die wäßrige Phase, eines polaren  
organischen Lösungsmittels zugegeben. Danach erfolgt die  
Entfernung des Lösungsmittels, Auftrennung der Zucker über  
stark saure Kationenaustauscher, vorzugsweise unter Verwendung  
von Aceton oder Acetonitril als "Extraktionsmittel", und  
30 Reinigung der Rhamnose durch Adsorption an Aktivkohle.  
Dieses Aufarbeitungsverfahren ist umständlich und für eine  
wirtschaftliche Gewinnung von Rhamnose nicht geeignet.

Nach der EP-A 317 033 werden in Zitrusabfällen enthaltene  
35 Glycoside enzymatisch zur Gewinnung von Rhamnose hydrolysiert.  
Die im Hydrolysat enthaltene Glucose wird durch Vergären mit

1 Hefe oder durch selektive Oxidation der Glucose zur  
5-Ketogluconsäure entfernt. Diese Methode ist teuer und  
umständlich, zumal noch eine chromatographische Reinigung  
über Aktivkohle erforderlich ist.

5 Nach der EP-A 282 942 wird ein isoliertes Rhamnolipid als  
Ausgangsmaterial verwendet, das mit  $H_2SO_4$  bei 30 bis 100°C  
hydrolysiert wird. Die dabei entstehende Hydroxydecansäure  
10 wird entweder mit Ethylacetat extrahiert oder an  
Anionenaustauschern adsorbiert. Die Hydrolyse des  
Rhamnolipid-Niederschlags (Bsp. III) erfolgt in sehr  
verdünnter Lösung. 1,9 g Rhamnose enthaltender Niederschlag,  
entsprechend ca. 3,8 g Rhamnolipid, werden in 300 ml  
15 einmolarer  $H_2SO_4$  suspendiert, erhitzt und anschließend mit  
dem vierfachen Volumen, d.i. 1200 ml Ethylacetat, behandelt.  
In der wässrigen Phase werden 1,2 g Rhamnose gefunden, in  
der organischen (Ethylacetat-)Phase verbleiben 0,5 g  
Rhamnose.

20 Die für die Herstellung von nur 1,2 g Rhamnose erforderlichen  
Säure- und Lösungsmittelmengen bedingen, daß eine  
wirtschaftliche Produktion von Rhamnose auf diese Weise  
nicht möglich ist.

25 Es ist also bisher keine Methode bekannt, die es erlaubt,  
Rhamnose in großer Menge mit wirtschaftlichen Mitteln und  
ohne teure und gefährliche Hilfsstoffe (Enzyme, brennbare  
und giftige Lösungsmittel) herzustellen.

30 Gegenstand der Erfindung ist nun ein Verfahren zur  
Herstellung von Rhamnose aus Rhamnolipiden, das dadurch  
gekennzeichnet ist, daß man eine saure Emulsion des  
Rhamnolipids bei 100 bis 200°C hydrolysiert und anschließend  
35 kühlt, die wässrige Phase des entstandenen Hydrolysats von  
der lipiden Phase abtrennt, ihren pH-Wert durch Zugabe einer  
basischen Verbindung anhebt, einen etwa entstehenden

- 1 Niederschlag abtrennt, die verbleibende Lösung einengt  
und entweder unmittelbar weiterverarbeitet oder über ein  
Ionenaustauscherharz chromatographiert, wobei als Eluat  
Rhamnose enthaltende Fraktionen anfallen, die als solche  
5 weiterverarbeitet oder zu kristallinem Rhamnosemonohydrat  
aufgearbeitet werden.

Es ist ein Vorteil des erfindungsgemäßen Verfahrens, daß  
man auf die Mitverwendung von organischen Lösungsmitteln  
10 vollständig verzichten und als Lösungsmittel ausschließlich  
Wasser verwenden kann.

- Die bei dem erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten  
Rhamnolipide lassen sich auf verschiedene Weise, z.B. gemäß  
15 der EP-A 282 942 und der DE-A 34 05 664 nach fermentativen  
Verfahren herstellen. Zweckmäßig werden die erhaltenen  
Emulsionen weitgehend von Fremdsalzen befreit, vorteilhaft  
soweit, daß sie eine Leitfähigkeit von weniger als 12 mS/cm,  
vorzugsweise von weniger als 5 mS/cm aufweisen. Derartige  
20 entsalzte Emulsionen können auch nach dem Verfahren der  
am gleichen Tage eingereichten Patentanmeldung der Hoechst  
Aktiengesellschaft (HOE 90/F 284) mit dem Titel "Verfahren  
zur Herstellung geeigneter Glycolipide durch  
Membrantrennverfahren durch Ultrafiltration hergestellt  
25 werden. Für das erfindungsgemäße Verfahren werden  
zweckmäßig solche Emulsionen verwendet, deren wäßrige  
Phase einen pH-Wert von 0 bis 3, vorzugsweise von 0,5 bis  
1,5 aufweisen und die einen Trockensubstanzgehalt, d.i.  
Verdampfungsrückstand durch 30 minütiges Erhitzen auf 85°C  
30 bei 6 kPa bestimmt, von 5 bis 50, vorzugsweise 10 bis  
20 Gew.-% aufweisen. Dieser Trockensubstanzgehalt läßt sich  
durch Aufkonzentrierung bzw. Verdünnung mit Wasser  
einstellen.
- 35 Das erfindungsgemäße Verfahren kann diskontinuierlich oder  
kontinuierlich durchgeführt werden, wobei die kontinuierliche  
Arbeitsweise bevorzugt ist.

- 1 Für die Einstellung der Emulsion auf den pH-Wert von 0 bis 3  
kann man z.B. Salzsäure verwenden; ist jedoch kontinuierliches  
Arbeiten beabsichtigt, empfiehlt es sich, als Säuren solche  
zu verwenden, die mit der basischen Verbindung, die im späteren  
5 Verlaufe des Verfahrens zugesetzt wird, ein schwerlösliches  
Salz bilden, vorzugsweise  $H_2SO_4$ ,  $H_3PO_4$  und HF.

- Die saure Emulsion wird z.B. diskontinuierlich oder  
kontinuierlich unter gutem Rühren 5 bis 300 min,  
10 vorzugsweise 20 bis 150 min, insbesondere 30 bis 120 min  
auf eine Temperatur von 100 bis 200°C, vorzugsweise 110  
bis 160°C, insbesondere 120 bis 150°C erhitzt und  
anschließend gekühlt. Eine gute Durchmischung des zu  
hydrolysierenden Gemisches bis zur Trennung der wäßrigen  
15 Phase von der Ölphase ist sehr wichtig, da es sich um eine  
heterogene Hydrolyse handelt, bei der sich die als  
Katalysator wirkende Säure sowie die freigesetzte Rhamnose  
in der Wasserphase befinden, und das zu hydrolysierende  
Rhamnolipid zusammen mit nicht umgesetztem Substrat, z.B.  
20 Sojaöl in der Lipidphase. Die Durchmischung kann durch  
physikalische Mittel unterstützt werden, beispielsweise  
durch Rühren, Schütteln oder Anwendung von Ultraschall.

- Die Dauer der Hydrolyse ist wie beim diskontinuierlichen  
25 Verfahren natürlich von der angewandten Temperatur abhängig.  
Bei der kontinuierlichen Arbeitsweise läßt sich die  
Aufenthaltszeit über die Änderung verschiedener Faktoren  
variieren, wie z.B. der Leistung der Einspeisepumpe, der  
Zahl der Reaktoren bzw. dem Volumen bis zum Druckhalteventil.

- 30 Nach der Hydrolyse fällt ein Produkt an, das im wesentlichen  
aus einer wäßrigen Phase besteht, die die freigesetzte  
Rhamnose enthält und neben der noch eine Ölphase vorhanden  
ist, die u.a. unumgesetztes Rhamnolipid enthält. Dieses  
Produkt wird z.B. in einem Separator in die beiden Phasen

- 1        getrennt. Um eine leichte Trennung zu ermöglichen, werden  
die beiden Phasen bei einer Temperatur von unter 100°C,  
vorzugsweise bei etwa 50 bis 90°C, separiert.
- 5        Als basische Verbindungen eignen sich insbesondere solche,  
die mit der eingesetzten Säure ein schwerlösliches Salz  
bilden, vorzugsweise  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  und/oder  $\text{CaCO}_3$ . Derartige  
Salze sind vor allem für die kontinuierliche Arbeitsweise  
bevorzugt. Die Anhebung des pH-Wertes erfolgt zweckmäßig  
10       bis zu einem Wert von 2 bis 8, vorzugsweise 3 bis 7. Der  
gebildete Feststoff wird, gegebenenfalls unter Zusatz eines  
Filterhilfsmittels, abgetrennt und das Filtrat unter  
vermindertem Druck, vorzugsweise bei unter 20 kPa, z.B.  
unter 60°C, auf einen Trockensubstanzgehalt von 20 bis 60,  
15       vorzugsweise 25 bis 50 Gew.-% eingeengt. Als  
Filterhilfsmittel kommen z.B. solche auf Basis von  
Zellulose oder Kieselgur, beispielsweise ©Arbocell und  
©Celite in Frage.
- 20       Geeignete Ionenaustauscherharze sind sulfonierte mit  
Divinylbenzol vernetzte Polystyrolharze in der Salzform,  
die vorzugsweise dieselbe Art von Kationen enthalten wie  
die zur Neutralisation verwendete basische Verbindung. Die  
bei der Chromatographie erhaltenen Rhamnose enthaltenden  
25       Fraktionen werden unter vermindertem Druck, vorzugsweise  
bei unter 20 kPa, weiter in Abhängigkeit von der Temperatur  
eingeengt, z.B. auf einen Trockensubstanzgehalt von  
ca. 65 Gew.-%, und nach einer etwaigen Filtration  
kristallisiert.
- 30       Die Rhamnose kann vor oder nach einer chromatographischen  
Trennung in dieser Form bereits weiterverarbeitet werden,  
z.B. zu Furaneol, wenn die Reinheit der Lösung ausreichend  
ist.

35



1 Zur Vorreinigung der wäßrigen Phase vor der Chromatographie und der Kristallisation kann diese mit Entfärbungsmitteln, wie z.B. Aktivkohle oder Bentonit behandelt werden.

5 Die Kristallisation kann als Verdampfungs- und/oder Kühlungskristallisation durchgeführt werden. Die Kühlungskristallisation erfolgt bevorzugt zwischen 65 und 15°C mit einer Kühlrate von 1 bis 10°C/h, vorzugsweise 3 bis 6°C/h. Die Verdampfungskristallisation läßt sich  
10 beispielsweise so durchführen, daß man bei einer Temperatur von 65°C und einem Druck von 20 kPa Wasser so schnell verdampft, daß eine Übersättigung in der Mutterlauge von 1,05 bis 1,3, vorzugsweise 1,1 bis 1,15 eingehalten wird und die Kristalle von Rhamnosemonohydrat bis zu einer  
15 Kantenlänge von 0,3 bis 0,5 mm wachsen können. Das Kristallisat kann in einer Siebkorbzentrifuge von der Mutterlauge abgetrennt werden. Die Mutterlauge kann einer zweiten Kristallisationsstufe unterworfen werden. Eine solche mehrstufige Verdampfungskristallisation führt  
20 bekanntlich zu einer höheren Ausbeute an kristallisiertem Produkt.

Die danach anfallende Restmutterlauge kann durch eine chromatographische Behandlung von störenden Fremdstoffen  
25 befreit und noch weiter wie oben beschrieben zu kristallinem Rhamnosemonohydrat aufgearbeitet werden.

Als Rohprodukt fällt die Rhamnose in Form von Kristallen von Rhamnosemonohydrat (Reinheit ca. 95 %) an. Dieses  
30 Rohkristallisat kann aus Wasser umkristallisiert werden und in üblicher Weise, z.B. unter Bewegung mit über 70°C warmer Luft oder unter vermindertem Druck, beispielsweise unter 20 kPa, bei einer Temperatur von 20 bis 70°C, getrocknet werden.

35

- 1 Das Verfahren einer kontinuierlichen sauren Hydrolyse eines Rhamnolipids wird beispielhaft im folgenden genauer beschrieben.

5 Beispiele

1. Aus einem fermentativ erhaltenen entsalzten Konzentrat mit einem Trockensubstanzgehalt von 40 Gew.-% (gravimetrisch bestimmt) wurde unter Rühren mit Schwefelsäure und Wasser  
10 eine Rhamnolipidemulsion mit 15 Gew.-% Trockensubstanzgehalt und einem pH-Wert von 0,9 hergestellt.

380 l dieser Emulsion wurden stündlich mittels einer Mohnopumpe in eine Hydrolyseanlage eingebracht, die im  
15 wesentlichen besteht aus:

- a) einer Homogenisieranlage (z.B. ©SUPRATON-Maschine) mit einer geregelten Dampfinjektion in der Saugseite,
- b) einer Heißhaltestrecke, bestehend aus mehreren  
20 hintereinander zu durchlaufenden Reaktoren, deren letzter eine Druckhalteeinrichtung (Druckhalteventil) besitzt, womit ein bestimmter Druck zwischen der Mohnopumpe und dem Druckhalteventil eingestellt werden kann, in der die wäßrige Emulsion auf 150 bis 160°C erhitzt wird,  
25 wobei die Aufenthaltszeit in der Heißhaltestrecke etwa 120 min beträgt, und
- c) einer Kühleinrichtung, z.B. Röhrenkühler, mit der das Hydrolysat unter 100°C abgekühlt wird.

30 In der SUPRATON-Maschine sind Werkzeuge eingebaut, die eine gute Homogenisierung und Zerkleinerung bewirken. Diese Maschine hat die Aufgabe, den Produktstrom hohen Scherkräften zu unterwerfen und somit Säure, Wasser und das Rhamnolipid innig zu durchmischen, Bedingungen, die  
35 für ein heterogenes Reaktionsgemisch von großer Bedeutung sind.

1 Das gekühlte Hydrolysat wurde in einem mit einem Rührer  
versehene(n) Behälter gesammelt. Dann wurden die Phasen  
mechanisch, z.B. in einem Separator (z.B. Westfalia-  
5 Separator) getrennt und die wäßrige Phase kontinuierlich  
abgezogen. Diese wurde in einem mit einem Rührer versehenen  
Behälter gesammelt, mit Calciumcarbonat auf einen pH-Wert  
von ca. 4,5 gebracht und der entstandene Niederschlag  
(Gips), z.B. in einer Kammerfilterpresse, abgetrennt,  
10 gewaschen und das Filtrat unter vermindertem Druck (unter  
20 kPa) eingeeengt. Man erhält aus insgesamt 380 l/h der  
in die Hydrolyseanlage eingespeisten Emulsion etwa 440 l/h  
Hydrolysat und etwa 380 l/h Filtrat. Dieses wurde auf etwa  
50 Gew.-% Trockensubstanzgehalt eingeeengt, filtriert und  
15 über einen Ionenaustauscher Lewatit TSW 40 in Kalziumform  
chromatographiert.

Die zur chromatographischen Trennung verwendete Anlage  
besteht aus 3 Säulen (1 m Durchmesser) mit einem Gesamt-  
Harz-Inhalt von 14 m<sup>3</sup> Harz.

20 700 kg eines Rohproduktes mit einem Trockensubstanzgehalt  
von 47,6 Gew.-% (333 kg Trockensubstanz), die 244 kg Rhamnose  
enthalten, werden bei 65°C und einem Durchfluß von 1,6 m<sup>3</sup>/h  
mit entsalztem Wasser eluiert. Die Produktfraktion, die  
25 nach 0,5 l Bettvolumen am Ende der 3. Säule enfällt und  
0,275 l Bettvolumen beträgt (3,85 m<sup>3</sup>, 210 kg Rhamnose  
enthaltend), wird schonend eingeengt und gemeinsam mit einer  
weiteren Produktfraktion zur Kristallisation gebracht.

30 660 kg der konzentrierten Produktfraktion (TS-Gehalt 69,2  
Gew.-%, 457 kg TS) werden in einem 600 l Kühlungskristallisator  
unter Rühren von 65°C auf 20°C mit einer Kühlrate von 3°C/h  
abgekühlt und anschließend in einer Siebkornzentrifuge in  
35 354 kg Rhamnosemonohydratkristalle und 386 kg Mutterlauge  
(incl. Waschwasser) getrennt.

1 Die Kristalle haben eine Reinheit von 98 % und sind schwach  
gelb gefärbt. Sie können aus Wasser umkristallisiert werden.  
Die Mutterlauge wird einer weiteren Kristallisation  
5 unterworfen und die daraus resultierende Endmutterlauge  
wird rechromatographiert.

2. (Diskontinuierliche Hydrolyse) Zu einem durch  
Ultrafiltration entsalzten Konzentrat (40 % TS) wurde  
konzentrierte Salzsäure in einer Menge zugegeben, so daß  
10 die gesamte Mischung ca. 1/8 normal an Salzsäure war (0,46  
Gew.-%).

In einem Rühr-Autoklav wurde die Emulsion zwei Stunden auf  
140°C erhitzt, nach dem Abkühlen erfolgte eine  
15 Phasenseparierung. Die wäßrige Phase wurde mit  
Calciumhydroxyd auf einen pH-Wert von etwa 6 bis 8  
eingestellt, nach Zugabe von Bentonit eine Stunde gerührt  
und filtriert.

20 Das Filtrat hat einen pH-Wert von 6 bis 8, einen  
Trockensubstanzgehalt von ca. 11 Gew.-% und enthält ca. 75 g  
Rhamnose/l. Diese Lösung wurde direkt zur Kristallisation  
gebracht. Die Mutterlauge wurde wie in Beispiel 1  
chromatographiert und wie in Beispiel 1 oder 3 zur  
25 Kristallisation gebracht.

3. (Verdampfungskristallisation) In einem  
Verdampfungskristallisator (100 l Inhalt) wurde isobar  
bei 20 kPa die konzentrierte Produktfraktion mit einem  
30 TS-Gehalt von ca. 65 Gew.-% eingeengt, wobei das Niveau  
über der Heizkammer gehalten wurde. Bei einer  
Übersättigung von 1,1 (s. Abb. Löslichkeitskurve) wurde  
mit feingemahlenden Rhamnosemonohydratkristallen angeimpft  
und anschließend die konzentrierte Produktlösung  
35 entsprechend der Kristallisationsgeschwindigkeit langsam  
nachgezogen, bis der Kochapparat gefüllt war. Der TS-

1     Gehalt des Magmas beträgt dann ca. 80 Gew.-%. Die Füllmasse  
      (Magma) wurde anschließend in einer Siebkorbzentrifuge in  
      27,8 kg Kristalle von Rhamnosemonohydrat und 46,5 kg  
      Mutterlauge getrennt.

5

      Die Mutterlauge wurde ein zweites Mal kristallisiert; die  
      Endmutterlauge wurde in einer chromatographischen Trennung  
      von Nebenprodukten befreit und die Rhamnose wie oben  
      beschrieben kristallisiert.

10

## 1 PATENTANSPRÜCHE

1. Verfahren zur Herstellung von Rhamnose aus Rhamnolipiden, dadurch gekennzeichnet, daß man eine saure Emulsion des Rhamnolipids bei 100 bis 200°C hydrolysiert und anschließend kühlt, die wäßrige Phase des entstandenen Hydrolysats von der lipiden Phase abtrennt, ihren pH-Wert durch Zugabe einer basischen Verbindung anhebt, einen etwa entstehenden Niederschlag abtrennt, die verbleibende Lösung einengt, und entweder unmittelbar weiterverarbeitet oder über ein Ionenaustauscherharz chromatographiert, wobei als Eluat Rhamnose enthaltende Fraktionen anfallen, die als solche weiterverarbeitet oder zu kristallinem Rhamnosemonohydrat aufgearbeitet werden.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Lösungsmittel ausschließlich Wasser verwendet wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß man von einer fermentativ gewonnenen Emulsion von Rhamnolipiden ausgeht.
4. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß man kontinuierlich arbeitet.
5. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die lipide Phase spätestens in der Hydrolysestufe in das Verfahren zurückgeführt wird.
6. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Rhamnolipid-Emulsion verwendet, die eine Leitfähigkeit von weniger als 12 mS/cm vorzugsweise von weniger als 5 mS/cm aufweist.

- 1 7. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Emulsion einen Trockensubstanzgehalt von 5 bis 50 Gew.-%, vorzugsweise 10 bis 20 Gew.-%, aufweist.
- 5 8. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß die wäßrige Phase der sauren Emulsion einen pH-Wert von 0 bis 3, vorzugsweise 0,5 bis 1,5 aufweist.
- 10 9. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Hydrolyse bei 110 bis 160°C, vorzugsweise bei 120 bis 150°C durchgeführt wird.
- 15 10. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß die wäßrige Phase des entstandenen Hydrolysats bei unter 100°C, vorzugsweise bei 50 bis 90°C, von der lipiden Phase abgetrennt wird.
- 20 11. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß man den pH-Wert der wäßrigen Phase durch Zugabe einer basischen Verbindung, die mit einem in der Lösung enthaltenen Säureanion ein schwerlösliches Salz bildet, vorzugsweise  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  und/oder  $\text{CaCO}_3$ , auf 2 bis 8, vorzugsweise 3 bis 7, anhebt.
- 25 12. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß man die nach der Abtrennung des Niederschlags verbleibende Lösung mit einem Entfärbungsmittel, vorzugsweise Bentonit, behandelt.
- 30 13. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Lösung, die über das Ionenaustauscherharz chromatographiert wird, auf einen Trockensubstanzgehalt von 20 bis 60, vorzugsweise 25 bis 50 Gew.-% eingeeengt wird.
- 35

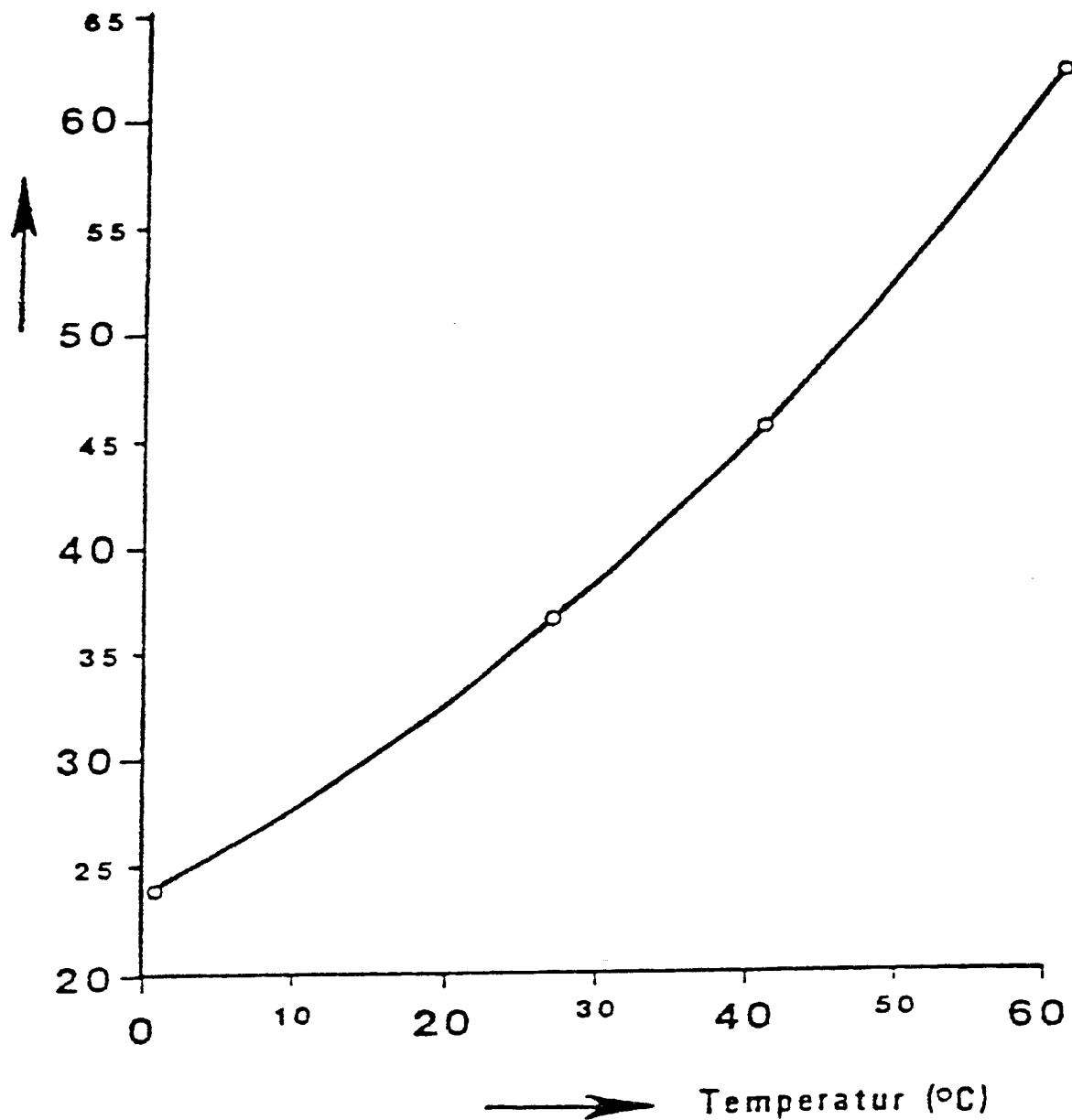
- 1 14. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Kristallisation des Rhamnosemonohydrats als Kühlungs- oder Verdampfungskristallisation durchgeführt wird.
- 5 15. Verfahren nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß die Kühlungskristallisation mit einer Kühlrate von 1 bis 10, vorzugsweise 3 bis 6°C/h durchgeführt wird.
- 10 16. Verfahren nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß bei der Verdampfungskristallisation eine Übersättigung in der Mutterlauge von 1,05 bis 1,3, vorzugsweise 1,1 bis 1,15, eingehalten wird.

15



n/n

g/100g Lösung



Löslichkeit von L-Rhamnose in Wasser  
in Abhängigkeit von der Temperatur

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/EP 91/01426

|  |   |   |
|--|---|---|
| <b>I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> (If several classification symbols apply, indicate all) *   |   |   |
| According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC  |   |   |
| Int.Cl. <sup>5</sup> C 07 H 3/02 C 07 H 3/08   |   |   |
| <b>II. FIELDS SEARCHED</b>   |   |   |
| Minimum Documentation Searched <sup>7</sup>  |   |   |
| Classification System  | Classification Symbols  |   |
| Int.Cl. <sup>5</sup>   | C 07 H 3/00 C 12 P 19/00  |   |
| Documentation Searched other than Minimum Documentation<br>to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched *   |   |   |
|  |   |   |
| <b>III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b> *  |   |   |
| Category *   | Citation of Document, <sup>11</sup> with indication, where appropriate, of the relevant passages <sup>12</sup>  | Relevant to Claim No. <sup>13</sup>                 |
| A  | Biotechnology and Bioengineering, Vol.33,<br>No.3, 15 January 1989, J. Wiley & Sons,<br>(New York, US),<br>R.J. Linhardt et al.: " Microbially<br>produced Rhamnolipid as a source of<br>Rhamnose", pages 365-368, see page 366,<br>column 2<br>----- | 1   |
| A  | EP,A,0317036 (UNILEVER N.V.) 24 May 1989,<br>see page 9<br>-----  | 1   |
| A  | EP,A,0314959 (SOCIETE DES PRODUITS NESTLE SA)<br>10 May 1989, see column 5<br>-----   | 1   |
| <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>* Special categories of cited documents: <sup>10</sup></p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p> </div> </div> |   |   |
| <b>IV. CERTIFICATION</b>   |   |   |
| Date of the Actual Completion of the International Search  |   | Date of Mailing of this International Search Report |
| 14 October 1991 (14.10.91)   |   | 13 November 1991 (13.11.91)                         |
| International Searching Authority  |   | Signature of Authorized Officer                     |
| EUROPEAN PATENT OFFICE   |   |   |

**ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT  
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.**

EP 9101426  
SA 49860

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report.  
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 08/11/91  
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s)     | Publication<br>date  |
|---|---------------------|--------------------------------|----------------------|
| EP-A- 0317036                             | 24-05-89            | WO-A- 8904831<br>JP-T- 2502186 | 01-06-89<br>19-07-90 |
| EP-A- 0314959                             | 10-05-89            | AU-A- 2403788<br>US-A- 5008381 | 04-05-89<br>16-04-91 |

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 91/01426

## I. KLASSEFIZKATION DES ANMELDUNGS-GE-GENSTANDS (bei mehreren Klassefizierungssymbolen sind alle anzugeben)<sup>6</sup>

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC  
 Int.Cl.5                      C 07 H    3/02                      C 07 H    3/08

## II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff <sup>7</sup>

| Klassifikationssystem | Klassifikationssymbole                              |
|-----------------------|---|
| Int.Cl.5              | C 07 H    3/00                      C 12 P    19/00 |

Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen <sup>8</sup>

## III. EINSCHLAGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN <sup>9</sup>

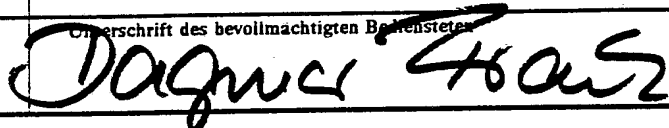
| Art. <sup>o</sup> | Kennzeichnung der Veröffentlichung <sup>11</sup> , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile <sup>12</sup>   | Betr. Anspruch Nr. <sup>13</sup> |
|-------------------|--|----------------------------------|
| A                 | Biotechnology and Bioengineering, Band 33, Nr. 3, 15. Januar 1989, J. Wiley & Sons, (New York, US), R.J. Linhardt et al.: "Microbially produced Rhamnolipid as a source of Rhamnose", Seiten 365-368, siehe Seite 366, Spalte 2<br>--- | 1                                |
| A                 | EP,A,0317036 (UNILEVER N.V.) 24. Mai 1989, siehe Seite 9<br>---  | 1                                |
| A                 | EP,A,0314959 (SOCIETE DES PRODUITS NESTLE SA) 10. Mai 1989, siehe Spalte 5<br>-----  | 1                                |

<sup>o</sup> Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen <sup>10</sup> :

- "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

- "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

## IV. BESCHEINIGUNG

|   |  |
|---|--|
| Datum des Abschlusses der internationalen Recherche<br><br>14-10-1991 | Absendedatum des internationalen Recherchenberichts<br><br>13. 11. 91  |
| Internationale Recherchenbehörde<br><br>EUROPAISCHES PATENTAMT        | Unterschrift des bevollmächtigten Beauftragten<br><br> |

# ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.

EP 9101426  
SA 49860

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentedokumente angegeben.  
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 08/11/91  
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

| Im Recherchenbericht<br>angeführtes Patentedokument | Datum der<br>Veröffentlichung | Mitglied(er) der<br>Patentfamilie | Datum der<br>Veröffentlichung |
|---|-------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| EP-A- 0317036                                       | 24-05-89                      | WO-A- 8904831<br>JP-T- 2502186    | 01-06-89<br>19-07-90          |
| EP-A- 0314959                                       | 10-05-89                      | AU-A- 2403788<br>US-A- 5008381    | 04-05-89<br>16-04-91          |

EPO FORM P0473

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82